Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 541-560

Evaluation of Humic Acid on Chromium Toxicity, Accumulation and Translocation in Lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*)

A. Omidi[1], A.R. Astaraei[2]*, H. Emami[3]

Received: 09-08-2022
Revised: 04-09-2022
Accepted: 11-10-2022
Available Online: 11-10-2022

How to cite this article:
Omidi, A., Astaraei, A.R,. & Emami, H. (2023). Evaluation of humic acid on chromium toxicity, accumulation and translocation in lettuce (*Lactuca sativa* L. var. longifolia). *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 541-560. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/JHS.2022.78131.1188

Introduction

Chromium pollution of the soil due to natural processes or industrial activities such as metal refining, chrome plating, stainless-steel production, leather tanning, and chemical dye production is a globle environmental issue. Excessive soil Cr levels cause detrimental effects on plant physiological processes including photosynthesis, water relations and mineral nutrition as well as the growth of roots, stems and leaves, which may decrease the biomass and yield of plants. Currently, soil application of organic amendments particularly humic acid seems to be an effective procedure to enhance relative plant tolerance to Cr stress. Humic acids are complexes of heterogeneous poly electrolytes with abundant functional groups that act as a weak poly electrolytic acid. Their structures, the degree to which these functional groups are protonated or ionized and environmental conditions influence the interaction between HA and soil pollutants. The complex compounds form by interaction of HA and heavy metals that cannot be uptaken by plants. Humic acid may play a significant role in the mobility and uptake of Cr which leads to a significant increase in plant biomass and growth. The aim of this research was to investigate the ability of humic acid to reduce Cr uptake and translocation by lettuce (*Lactuca sativa* L.) from Cr-contaminated soil.

Materials and Methods

The present study through a greenhouse pot experiment was conducted in the greenhouse of Ferdowsi university of Mashhad. The experiment was arranged in a factorial manner in a randomized complete design with three replications and treatments consisted of 3 levels of Cr (0, 25, and 50 mg kg^{-1}as $K_2Cr_2O_7$) and 3 rates of HA (0, 5 and 10 %). The soil samples were dried at room temperature, ground and sieved with a 2-mm mesh screen for further analysis. The bioavailable concentrations of Cr in the soils were assessed by DTPA. Three lettuce seedlings were grown in each pot containing five air-dried soil and watered to a near field capacity with distilled water as needed. After 100 days plant tissues were harvested, carefully washed with deionized water and the leaf, stem and root parts separated. All of them were oven-dried at 65-75 °C to constant weight and the dry weight of lettuce tissue samples was recorded. To determine the Cr concentrations, the tissues were ground, passed through a 0.3-mm sieve and digested in di-acid mixture (HNO_3:$HClO_4$). Concentrations of Cr in the digested solutions and soil extractions were determined using an Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). Translocation factor (TF) is determined from the ratio of the concentration of Cr in the plant's shoots compared to that in the plant's roots. Bioaccumulation factor (BAF) was evaluated as defined as the accumulated concentration of Cr in plant divided by concentration to that in respective soil. A two-way analysis of variance was done by using a statistical package, JMP version 8.0. The differences between the treatments were determined using LSD multiple range tests at significance level of $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.001$.

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Associate Professor and Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: astaraei@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2022.78131.1188

Results and Discussion

The results of the present study clearly demonstrate that all Cr treatments significantly reduced leaf, stem, shoot and root dry weights. In unamended soils, both Cr treatments alone reduced leaf, shoot, stem and root dry weights 83%, 101%, 207% and 65% (for Cr 25 mg kg^{-1}) and 194%, 219%, 355% and 92% (for Cr 50 mg kg^{-1}) respectively as compared to control. Using HA (5 and 10%) and Cr treatments (25 and 50 mg kg^{-1}), showed that leaf, shoot, stem and root dry weights were significantly increased as compared to Cr contaminated control. The lowest values of these parameters were recorded in Cr treatments without addition of HA, whereas at each Cr level, the highest values of them were obtained with application of 10% HA. The Cr concentrations in shoot and root samples significantly were affected by adding HA and Cr levels in soil. It was observed that Cr contents in shoots and roots, transfer factor and bioaccumulation factor of shoots and roots significantly increased by increasing soil Cr levels. Moreover, HA application negatively affected Cr content in shoot compared to Cr treatment alone. The interaction of chromium and humic acid caused a significant decrease in the concentration of chromium in the aerial parts, the shoot accumulation factor and a significant increase in the concentration of chromium in the roots and consequently reduced translocation factor. The highest value of Cr in shoot (47.7 mg kg^{-1}) was obtained in those plants grown in soil with addition of 50 mg kg^{-1} Cr alone, whereas at each Cr level the lowest value of Cr in shoot was found in those plants grown in soil with the application of 10% HA. HA application in soil increased Cr concentration in root compared with Cr contaminated control. The maximum Cr concentration in the root (367 mg kg^{-1}) and root bioaccumulation factor (28.5) was obtained after exposure to 50 mg kg^{-1} Cr +10% HA treatment. Also, the regression models showed that the transfer factor and shoot bioaccumulation factor decreased significantly and linearly with increasing shoot dry weight. Moreover, the regression model of shoot dry weight and shoot bioaccumulation factor was able to predict traslocation factor and shoot bioaccumulation factor with Adjusted R^2 = -0.78** and R^2 = -0.93**, respectively.

Conclusion

Results demonstrated that Cr toxicity markedly reduced plant growth parameters for instance leaf, stem, shoot and root dry weight and enhanced the concentration of Cr in shoot and root as compared to control. Humic acid application in Cr contaminated soil induced increased plant biomass, root bioaccumulation factor, Cr contents in roots and reduced Cr concentration in leaves, translocation factor and shoot bioaccumulation factor. Therefore, the application of HA specially at higher dose (10%) seems to be a cost-effective and environmentally friendly method for the restriction of Cr accumulation and its transfer from contaminated soil to edible parts of lettuce, thus helping to enhance food security.

Keywords: BAF, Heavy metals, Organic amendment, TF

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۲، ص. ٥٦۰-٥٤۱

بررسی نقش اسید هیومیک برسمیت کروم و چگونگی جذب و انتقال آن در گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L. var. longifolia)

آزاده امیدی[۱]- علیرضا آستارایی[۲]*- حجت امامی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۶/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۹

چکیده

اسید هیومیک‌ها مجموعه‌ای از پلی‌الکترولیت‌های ناهمگن با گروه عاملی فراوان هستند که ممکن است به شکل قابل توجهی، نقش کلیدی در تحرک و جذب کروم موجود در خاک و در نهایت جذب توسط گیاه، ایفا کنند. پژوهش حاضر به صورت آزمایش گلخانه‌ای در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد (مهر –دی ۱۳۹۶) با هدف بررسی تأثیر اسید هیومیک در خاک آلوده به کروم بر وزن خشک ریشه، شاخساره، ساقه و برگ، همچنین غلظت کروم در شاخساره و ریشه، فاکتور انتقال، فاکتور انباشت شاخساره و ریشه گیاه کاهو رقم 'سیاهو'؛ به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور، ۱- سطح کروم (صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و ۲- اسید هیومیک (صفر، ۵ و ۱۰ درصد) در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح کروم در خاک، وزن‌های خشک برگ، شاخساره، ساقه و ریشه به ترتیب ۸۳، ۱۰۱، ۲۰۷ و ۶۵ درصد برای سطح ۲۵ میلی‌گرم کروم برکیلوگرم و ۱۹۴، ۲۱۹، ۳۵۵ و ۹۲ درصد برای سطح ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم کاهش معنی‌دار داشتند. افزایش اسید هیومیک موجب افزایش وزن خشک اجزاء مختلف گیاه، تحت تنش کروم شد. افزودن کروم به خاک، غلظت کروم در شاخساره و ریشه، فاکتور انتقال، فاکتور انباشت زیستی شاخساره و ریشه را به طور معنی‌داری افزایش داد. با کاربرد سطح صفر اسید هیومیک + ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم، غلظت کروم در شاخساره از ۰/۰۰۱۶ (شاهد) به ۳۷/۷ و در ریشه از ۰/۰۵۱ (شاهد) به ۳۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و فاکتور انتقال از ۰/۰۳۲ به ۰/۱۱۸ افزایش یافت. برهمکنش کروم و اسیدهیومیک موجب کاهش معنی‌دار غلظت کروم در اندام هوایی، فاکتور انباشت شاخساره و افزایش غلظت کروم در ریشه و به‌تبع آن، کاهش فاکتور انتقال گردید؛ به‌طوری‌که بیشینه غلظت کروم در شاخساره در تیمار ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم و در نبود اسید هیومیک، (۴۷/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) مشاهده شد؛ درحالی‌که کمترین مقدار کروم در هر تیمار کروم، با ۱۰ درصد اسید هیومیک مشاهده شد. بیشینه غلظت کروم در ریشه (۳۶۷ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن خشک) و فاکتور انباشت ریشه (۲۸/۵) در تیمار ۵۰ میلی‌گرم کروم + ۱۰ درصد اسیدهیومیک مشاهده شد. کوچک بودن فاکتور انتقال کروم نشان می‌دهد در کاهو تنها بخش اندکی از کروم از ریشه به اندام هوایی منتقل شده است و با افزودن اسیدهیومیک نیز، انتقال کروم از ریشه به اندام هوایی کاهش می‌یابد. همچنین مدل رگرسیونی نشان داد که با افزایش وزن خشک شاخساره فاکتور انتقال به طور خطی و معنی‌دار با $R^2 = -0/79^{**}$، کاهش یافت. مدل رگرسیونی برازش شده وزن خشک شاخساره با فاکتور انباشت شاخساره، توانست این فاکتور را برای کروم با $\text{Adjusted } R^2 = -0/93^{**}$ پیش‌بینی کند. بنابراین بیشترین سطح اسیدهومیک (۱۰ درصد) بکار رفته، بیشترین تأثیرگذاری را بر پارامترهای اندازه‌گیری شده داشته و این اصلاح کننده احتمالاً به خاطر ماهیت کمپلکس‌کنندگی و احیاکنندگی با افزایش انباشت کروم در ریشه، کاهش انتقال کروم از ریشه به اندام هوایی و در نتیجه کاهش انباشت این عنصر در شاخساره موجب افزایش زیست توده هوایی و ریشه کاهو شده و توانست تا حدودی اثرات سمی کروم را تعدیل کند.

واژه‌های کلیدی: اصلاح کننده آلی، عناصر سنگین، فاکتور انباشت زیستی، فاکتور انتقال

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: astaraei@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/JHS.2022.78131.1188

مقدمه

آلاینده‌های فلزات سنگین یک مشکل جدی برای محیط زیست می‌باشند زیرا فعالیت‌های انسانی مانند استخراج معدن، فراوری و کاربرد این فلزات در دهه‌های گذشته به‌شدت افزایش یافته و به چالشی برای زندگی روی زمین تبدیل شده‌اند. کروم یکی از پرمصرف ترین آلاینده‌های فلزی می‌باشد که به‌عنوان یکی از ۲۰ آلاینده برتر در فهرست مواد خطرناک اولویت‌های ملی[1] امریکا در سالهای اخیر می‌باشد. ترکیبات کروم در صنایع متالورژی، آبکاری فلزات، حفاظت چوب، تولیدجوهر، رنگ، شیشه و سرامیک، دباغی چرم و صنایع نساجی و بازدارنده‌های خوردگی در آب سرد بکار می‌رود؛ منجر به آلودگی شده و ممکن است خطرات عمده‌ای روی سلامتی ایجاد کند (Dhal *et al*., 2013) کروم خاصیت سرطان‌زایی داشته و در انسان دستگاه تنفسی، ارگان اصلی هدف برای کروم شش ظرفیتی است. قرار گرفتن در معرض کروم شش ظرفیتی به صورت مزمن استنشاقی، منجر به اثرات سوء بر دستگاه تنفسی از جمله سوراخ شدن و زخم سپتوم، برونشیت، کاهش عملکرد ریوی، ذات الریه، و خارش و درد بینی می‌شود . قرار گرفتن مزمن انسان در معرض سطوح زیاد کروم شش ظرفیتی از طریق استنشاق یا خوراکی ممکن است بر روی کبد، کلیه، دستگاه گوارش و سیستم ایمنی بدن و احتمالاً خون تأثیر بگذارد. مواجهه پوستی با کروم شش ظرفیتی ممکن است باعث درماتیت تماسی، حساسیت و زخم پوست شود (Saha *et al*., 2011).

کروم عمدتاً در سه حالت اکسیداتیو کروم صفر ظرفیتی، سه ظرفیتی و شش ظرفیتی موجود است که پایدارترین اشکال کروم هستند. از آنجایی که کروم صفر ظرفیتی شکل فلزی‌ست، اشکال کروم سه ظرفیتی و شش ظرفیتی در خاک و آب غالب هستند. هنگامی که کروم در آب/خاک قرار می گیرد، دچار تغییرات مختلفی مانند اکسیداسیون، احیا، جذب، دفع، انحلال و رسوب می‌شود. حلالیت کروم سه ظرفیتی به pH بستگی دارد، کروم شش ظرفیتی در دامنه وسیعی ازpH بسیار محلول است.کروم به عنوان یک عنصر غیر ضروری برای گیاهان، مکانیسم خاصی برای جذب آن وجود ندارد. جذب کروم سه ظرفیتی یک فرآیند غیرفعال است، در حالی که جذب کروم شش ظرفیتی توسط حامل‌های عناصر ضروری مانند سولفات انجام می‌شود (Oliveira, 2012). این عنصر قادر است اثرات سمی متعددی بر گیاهان از جمله تغییرات در فرآیند جوانه زنی و کاهش رشد ریشه، ساقه، برگ داشته باشد که در نهایت ممکن است بر تولید و عملکرد ماده خشک اثرگذار باشد و همچنین اثرات مضر بر فرآیندهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، روابط آبی و تغذیه معدنی ایجاد کند. تغییرات متابولیکی ناشی از قرار گرفتن در معرض کروم نیز در گیاهان به دلیل تأثیر مستقیم کروم بر آنزیم ها و سایر متابولیت ها یا توانایی آن در تولید گونه های اکسیژن فعال می باشد که ممکن است منجر به استرس اکسیداتیو شود (Shanker *et al*., 2005). افزایش تولید فرایندهای اکسیداتیو منجر به معیوب‌سازی DNA و RNA، پراکسیده شدن چربی، پروتئین، کاهش زیست توده، مسدود کردن زنجیره تأمین مواد غذایی و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Raptis *et al*., 2018). ریشه گیاه اولین اندام است که با آلاینده‌های خاک مواجه می‌شود، کروم یکی از مهمترین آلاینده های خاک است که بر رشد و نمو ریشه تأثیر می گذارد. کروم همچنین در تنظیم رشد و تعداد ریشه های ثانویه، توسعه ریشه جانبی، موهای ریشه و تشکیل ریشه های فرعی نقش دارد (Wakeel and Xu, 2020). هو و همکاران (Hou, *et al*., 2014) در بررسی اثر کروم بر سه گیاه گندم، ذرت و کاهو کاهش رشد ریشه در اثر افزایش غلظت کروم را مشاهده و عنوان کردند که گیاه کاهو نسبت به سایر گیاهان به سمیت کروم حساس‌تر است. در مطالعه‌ای پارک (Park, 2020) تأثیر دو گونه کروم سه ظرفیتی و شش ظرفیتی را برگیاه کاهو بررسی و با افزایش غلظت هر دو گونه کروم در شرایط هیدروپونیک، به طور قابل توجهی کاهش رشد برگ و ریشه همچنین کاهش غلظت پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر را مشاهده کرد. گیل و همکاران (Gill *et al*., 2015) در بررسی سمیت کروم بر چهار رقم کلزا، کاهش رشد هر چهار رقم مورد آزمایش، افزایش تجمع گونه های فعال اکسیژن (ROS) و مالون دی آلدئید (MDA) و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در برگ و ریشه را مشاهده کردند. همچنین با ارائه نتایج مطالعه میکروسکوپی الکترونی آسیب‌های فراساختاری در سلول‌های مزوفیل برگ و نوک ریشه در اثر سمیت کروم را تایید کردند. در مطالعه‌ای که دیاس و همکاران (Dias, et al., 2016) با کاربرد مقادیر کروم برگیاه کاهو نشان دادندکه استرس کروم رشد گیاه را کاهش داد و بر غلظت پتاسیم، منیزیم، آهن و روی در ریشه و برگ، کلروفیل a، آنتوسیانین‌ها، مقدار پروتئین، قند و همچنین واکنش‌های فتوسنتزی تأثیر منفی داشت و فرآیندهای فتوشیمیایی فتوسنتز نسبت به چرخه کالوین به سمیت کروم حساس‌تر بودند.

فرایندهای متفاوتی برای حذف کروم شش‌ظرفیتی پیشنهاد شده است. احیاء شیمیایی متداولترین روش مورد استفاده برای سمیت‌زدایی با احیاکننده‌های آلی و معدنی (به‌عنوان پذیرای الکترون) است که برای کاهش کروم شش‌ظرفیتی به کروم سه ظرفیتی به‌کار می‌رود؛ بعد از آن کروم سه ظرفیتی با هیدروکسیل واکنش داده و ترکیبات نامحلول و پایدار هیدروکسید کروم را تشکیل می‌دهد (Li *et al*., 2017).

اسید هیومیک‌ها پلی‌الکترولیت‌های آلی هستند که بخش مهمی

1- Superfund priority list

از مواد آلی طبیعی در خاک، رسوبات و آب می‌باشند که به دلیل حضور گسترده در همه جا و دارا بودن گروه‌های عملکردی مختلف مانند گروه‌های کربوکسیلیک، فنولیک، هیدروکسیل و برخی از گروه‌های عاملی حاوی نیتروژن، گوگرد، تأثیر قابل‌توجهی بر جذب یون‌های فلزی سمی نشان داده‌اند و توانایی تشکیل کمپلکس آنها از نظر زیست محیطی دارای اهمیت می‌باشد (Shaker and Albishri, 2014). حذف و احیاء کروم شش ظرفیتی توسط مواد هیومیکی در پژوهش‌های پیشین گزارش شده است. دو مکانیسم مستقیم وغیر مستقیم برای توصیف فرایند احیا کروم شش ظرفیتی توسط اسید هیومیک مطرح شده است. در مکانیسم مستقیم احیا، کروم شش ظرفیتی با تماس با گروه‌های دهنده الکترون در فاز مایع احیا گردیده و کروم سه ظرفیتی احیا یافته ممکن‌است متعاقبا روی سطح ماده جاذب، جذب شده یا در محلول باقی بماند. در مکانیسم غیرمستقیم، کروم شش ظرفیتی روی بار مثبت سطح جاذب، جذب شده و به دنبال آن کروم شش ظرفیتی متصل به اسید هیومیک توسط گروه‌های دهنده الکترون به کروم سه ظرفیتی احیا شده و کروم سه ظرفیتی ممکن‌است روی سطح جاذب از طریق کمپلکس شدن باقیمانده، یا به داخل فاز محلول آزاد گردد (Janoš *et al.*, 2009). وو و همکاران (Wu *et al.*, 2017) نشان دادند که اسید هیومیک با منشاء کود گاوی، با داشتن مقدار بیشتر کربن فنلی و کربن اکسیژن–الکیل[1] دارای توانایی بهتری برای احیاء کروم شش ظرفیتی است. کربن فنلی و کربن اکسیژن–الکیل، مانند الیگوساکارید و مونوساکارید موجود در اسید هیومیک‌ها، مواد احیاکننده کروم شش ظرفیتی هستند. به عقیده توفنکسی و همکاران (Tüfenkçi *et al.*, 2006) کاربرد اسید هیومیک با تأثیر مثبت بر رشد گیاه و غلظت عناصر غذایی مانند نیتروژن، اسید هیومیک، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن و کاهش عناصر سنگین مانند کروم، کبالت و کادمیوم منجر به بهبود رشد کاهو می‌گردد. مطالعه کابرد اسید هیومیک و تأثیر آن روی رنگدانه های فتوسنتزی گندم تحت تنش کروم نشان داد که کاربرد سطوح مختلف کروم منجر به کاهش کاروتنوئید، کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b گردید و با افزایش سطوح اسید هیومیک، نسبت کلروفیل a/b و مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA)[2] در گیاه در مقایسه با تیمارهای بدون اسید هیومیک، افزایش یافت که نشان داده نقش اسید هیومیک در تنظیم فعالیت‌های فتوسنتزی بوده که منجر به کاهش اثرات سوء تنش کروم در گیاه شده است (Akcin and Akcin, 2019). ریتیس و همکاران (Raptis *et al.*, 2018) کاهش تجمع کروم در شاخساره و ریشه گیاه کاهو را با کاربرد ماده آلی لئوناردیت مشاهده کردند و علت این امر را کاهش قابلیت دسترسی کروم به کاهو از طریق احیاء کروم شش ظرفیتی به کروم سه ظرفیتی در اثر کاربرد لئوناردیت عنوان کردند. با توجه به مصرف زیاد کاهو به صورت تازه خوری در سبد غذایی جامعه، سلامت این محصول از اهمیت به‌سزایی برخوردار می‌باشد. بنابراین پژوهش حاضر با هدف ارزیابی تأثیر سطوح اسید هیومیک در خاک آلوده به کروم و چگونگی واکنش گیاه به سمیت و جذب کروم، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. وزن‌های خشک برگ، ساقه، ریشه و غلظت کروم در قسمت خوراکی و ریشه گیاه و همچنین فاکتور انتقال، فاکتور انباشت در شاخساره و ریشه اندازه‌گیری گردید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد (مهر ۱۳۹۶) و با سه تکرار انجام شد. خاک از عمق ۳۰ سانتی‌متری جمع آوری و هوا خشک شد و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک در جدول ۱ ارائه شده است. بافت خاک به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962)، درصد مواد آلی (Walkley and Black, 1934) و مقدار کربنات کلسیم معادل (Loeppert and Suarez, 1996) تعیین شدند. نیتروژن کل به روش کجلدال(Bremner, 1996)، pH در گل اشباع و قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره گل اشباع مطابق روش‌های معمول اندازه گیری شد (Richards, 1954). غلظت عناصر سنگین کل در خاک با استفاده از روش تیزاب سلطانی (Chen and Ma, 2001) و مقادیر قابل استفاده کروم و سایر عناصر در خاک با استفاده از DTPA عصاره‌گیری (Quevauviller *et al.*, 1998) شد. جهت اعمال سه سطح کروم (صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، مقدار مشخصی از نمک $K_2Cr_2O_7$ در آب مقطر حل و محلول‌های کروم در سه سطح آماده‌سازی شدند. نمونه‌های خاک در کیسه‌های پلاستیکی ریخته شده و بر حسب تیمارها، از محلول پایه به صورت محلول‌پاشی به خاک‌ها افزوده و به طور کامل مخلوط گردید. نمونه‌های خاک به مدت ۸ هفته در رطوبت ظرفیت زراعی نگهداری شده تا به تعادل برسند (Wang, *et al.*, 2019). تیمارهای اسید هیومیک نیز به مقدار مشخص و بر پایه درصد، تهیه و به خاک اضافه شده و پس از مخلوط کردن به گلدان‌های پنج کیلویی منتقل گردید. سه عدد نشاء کاهوی سالادی رومی (*Lactuca sativa* L. var. longifolia) رقم 'سیاهو' از قبل آماده سازی شده در خاک کشت شد. گیاهان در فواصل زمانی معین با مقادیر یکسان آبیاری شدند. بعد از گذشت ۱۰۰ روز از تاریخ کشت، هر سه گیاه در هر گلدان، از ۱ سانتی‌متر بالای سطح خاک قطع گردید. نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری و با آب مقطر

1- O-alkyl C
2- malondialdehyde

شسته شدند. قسمت‌های برگ، ساقه و ریشه جداسازی و در دمای ۷۰-۶۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت در اون خشک گردید. بعد از آن نمونه‌های خشک شده توزین، آسیاب، الک و برای هضم و آنالیز آماده شدند. نمونه‌های گیاهی ریشه و شاخساره با روش هضم اسید نیتریک/پرکلریک برای کروم کل عصاره‌گیری شد (Banks *et al.*, 2006). غلظت کروم کل در عصاره‌های گیاه و در عصاره‌های خاک با استفاده از دستگاه ICP-OES شده آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی قرائت گردید.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

Table 1- Physicochemical properties of the soil sample

ویژگی خاک Soil properties	مقدار Value	ویژگی خاک Soil properties	مقدار Value
بافت خاک Textural class	Sandy Loam	پتاسیم قابل استفاده Available K ($mg.kg^{-1}$)	161.41
واکنش خاک pH	7.71	کروم کل Total Cr ($mg.kg^{-1}$)	0.19
هدایت الکتریکی ECe ($dS.m^{-1}$)	1.42	آهن کل Total Fe ($mg.kg^{-1}$)	2457.84
کربن آلی Organic C (%)	0.48	منگنز کل Total Mn ($mg.kg^{-1}$)	42.12
کربنات کلسیم $CaCO_3$ (%)	15.20	کروم قابل دسترس DTPA- extractable Cr ($mg.kg^{-1}$)	0.01
نیتروژن کل Total nitrogen (%)	0.03	آهن قابل دسترس DTPA- extractable Fe ($mg.kg^{-1}$)	12.74
فسفر قابل دسترس Available P ($mg.kg^{-1}$)	10.60	منگنز قابل دسترس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) DTPA- extractable Mn ($mg.kg^{-1}$)	40.26

فاکتور انتقال[1] و فاکتور انباشت زیستی BAF[2] از فرمول‌های زیر محاسبه شدند.

$$\text{فاکتور انتقال} = \frac{\text{غلظت کروم در شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}{\text{غلظت کروم در ریشه (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}$$

$$\text{فاکتور انباشت زیستی شاخساره} = \frac{\text{غلظت کروم در شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}{\text{غلظت کروم در خاک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}$$

$$\text{فاکتور انباشت زیستی ریشه} = \frac{\text{غلظت کروم در ریشه (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}{\text{غلظت کروم در خاک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}$$

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار JMP8 انجام شد. مقایسه میانگین‌های هر تیمار بر اساس آنالیز واریانس (Two-Way ANOVA) و مطابق حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD)[3] انجام شد.

نتایج و بحث

وزن خشک گیاه (برگ، ساقه، ریشه و شاخساره)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس زیست توده برگ، ساقه، شاخساره و ریشه کاهو نشان داد که کاربرد سطوح کروم و اسید هیومیک بر وزن خشک اجزاء مختلف گیاه (برگ، ساقه، شاخساره و ریشه) تأثیر معنی‌دار داشت و برهمکنش این دو، در همه موارد به‌غیر از ساقه، معنی‌دار بود (جدول ۲).

با افزایش سطوح کروم در خاک وزن خشک برگ، شاخساره و ریشه به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است. در کاهو، مصرف ۲۵ و ۵۰ میلی گرم کروم بر کیلوگرم خاک موجب کاهش میانگین وزن خشک برگ به ترتیب معادل ۸۳٪ و ۱۹۴٪ (شکل ۱)، وزن خشک شاخساره به ترتیب معادل ۱۰۱٪ و ۲۱۹٪ (شکل ۳)، وزن خشک ریشه به ترتیب معادل ۶۵٪ و ۹۲٪ نسبت به شاهد شدند (شکل ۲). به نظر می رسد تأثیر این آلاینده در کاهش زیست‌توده برگ بیشتر از ریشه و در شاخساره بیشتر از برگ و ریشه بوده است.

بیشترین میزان تأثیر نسبت به شاهد، در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروم مربوط به شاخساره گیاه بوده است. قرار گرفتن گیاهان مختلف در معرض افزایش غلظت کروم، منجر به اختلال در رشد و نمو کاهو و گندم می‌گردد (Ali *et al.*, 2015; Dias *et al.*, 2016 ; Gill *et al.*, 2015). کروم با فرآیندهای فتوسنتزی (Dias *et al.*, 2016) تنفس، مکانیسم جذب آب و مواد معدنی تداخل دارد (Singh *et al.*, 2013). همچنین سمیت کروم در گیاهان را می‌توان با تأثیر منفی بر بیوسنتز رنگدانه (Ma *et al.*, 2016)، رشد

1- Translocat Factor
2- Bioaccumulation Factor
3- Least Significant Differenceion

ریشـه اعـم از طـول، حجـم و تعـداد نـوک (Zhao *et al*., 2019) و آسیب‌های فراساختاری در سلول‌هـای مزوفیـل بـرگ و نـوک ریشـه (Gill *et al*., 2015) مرتبط دانست. تجمع کروم در بافت‌های گیاهی فراتر از سطح سمیت گیاه منجر به ایجاد استرس اکسـیداتیو ثانویـه و در نتیجـه تولیـد بـیش از حـد گونـه‌هـای فعـال اکسـیژن ROS، پراکسیداسیون لیپیدی و تغییر فعالیت‌هـای آنتـی‌اکسـیدانی مـی‌شـود (Shahid *et al*., 2017). به‌هم‌ریختگی ساختار کلروپلاسـت، مهـار انتقال الکترون و تأثیر کروم بر آنزیم‌هـای چرخـه کـالوین، توضـیحی برای کاهش نرخ فتوسنتز می‌باشد (Shanker *et al*., 2005).

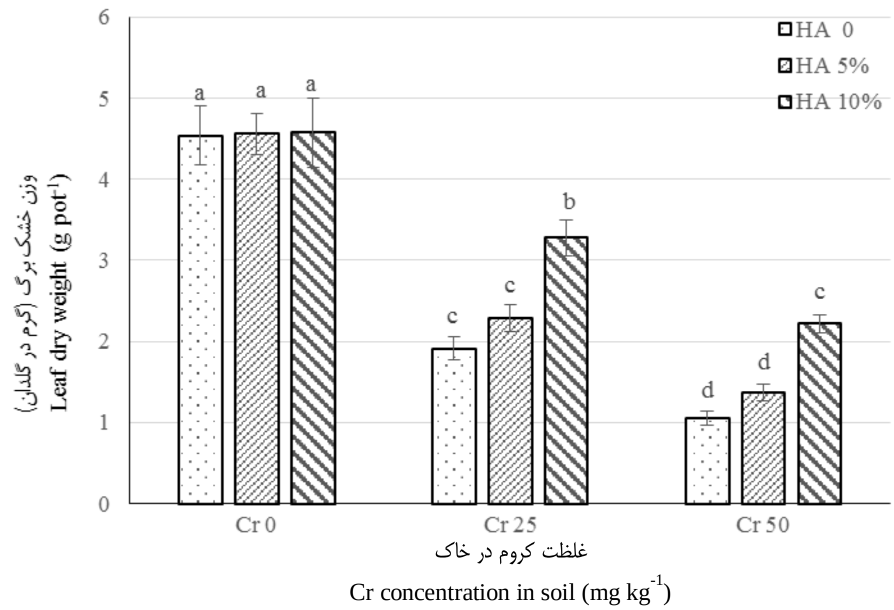
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سطوح کروم و اسید هیومیک، بر وزن خشک برگ، ساقه، ریشه و شاخساره کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Table 2- ANOVA for the effect of Cr and humic acid levels on leaf, stem, shoot and root dry weight in *Lactuca sativa* L. var. longifolia

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی df	وزن خشک Dry weight			
		برگ Leaf	ساقه Stem	شاخساره Shoot	ریشه Root
کروم Cr	2	21.3 **	2.62 **	38.6 **	0.3234 **
اسید هیومیک Humic acid (HA)	2	1.77 **	0.0417 **	2.23 **	0.0374 **
Cr × HA	4	0.413 **	0.0008 ns	0.441 **	0.0078 *
خطا Error	18	0.057	0.0069	0.048	0.0024
ضریب تغییرات CV(%)		7.22	8.24	5.61	8.83

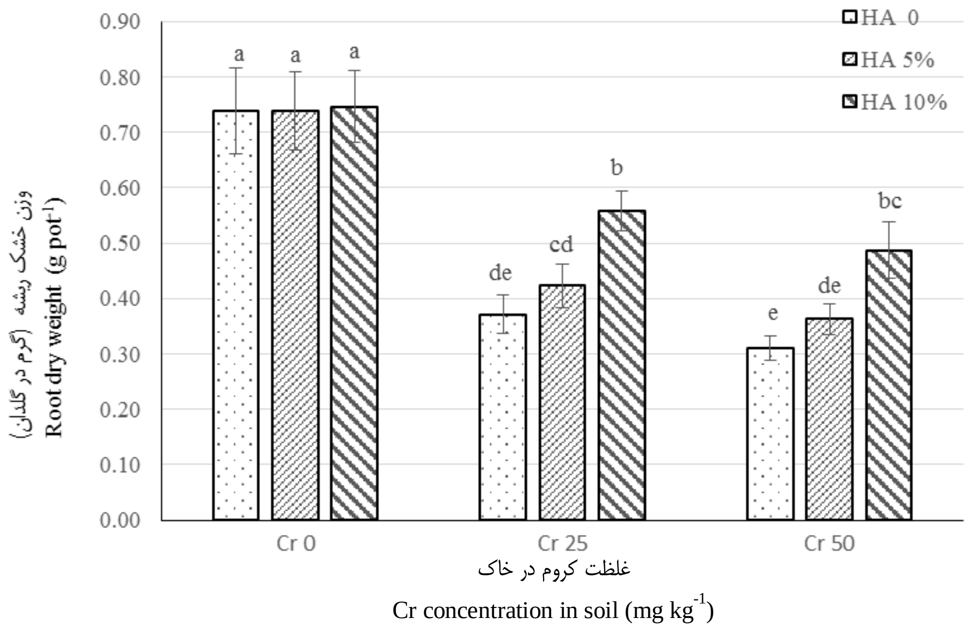
ns ، * و **: به ترتیب عدم معنی¬دار ی و معنی¬دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: non-significant and significant at $p\leq0.05$ and $p\leq0.01$, respectively.



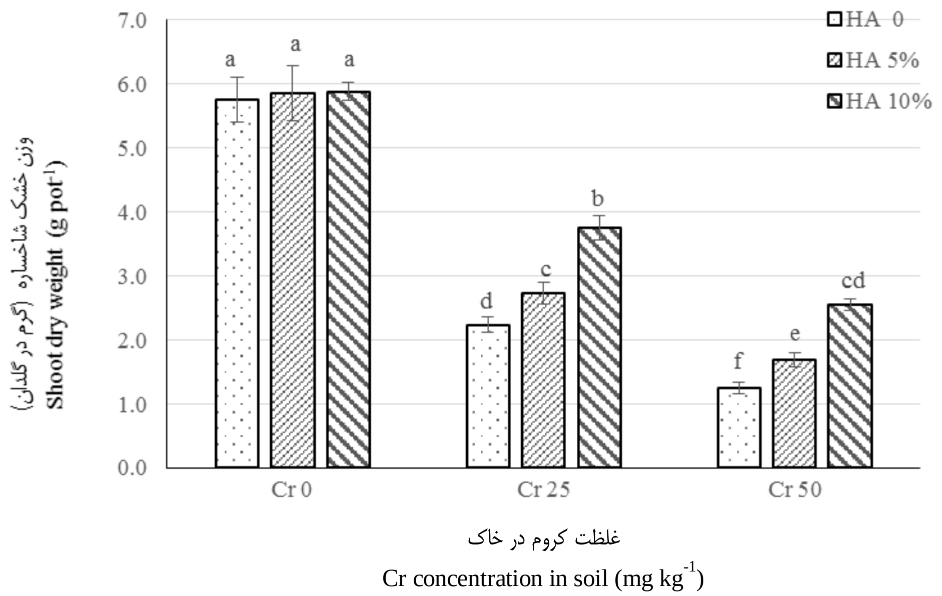
شکل ۱- اثر متقابل سطوح کروم × اسید هیومیک بر وزن خشک برگ کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 1 –The interaction effect of Cr ×humic acid levels on leaf dry weight of *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)



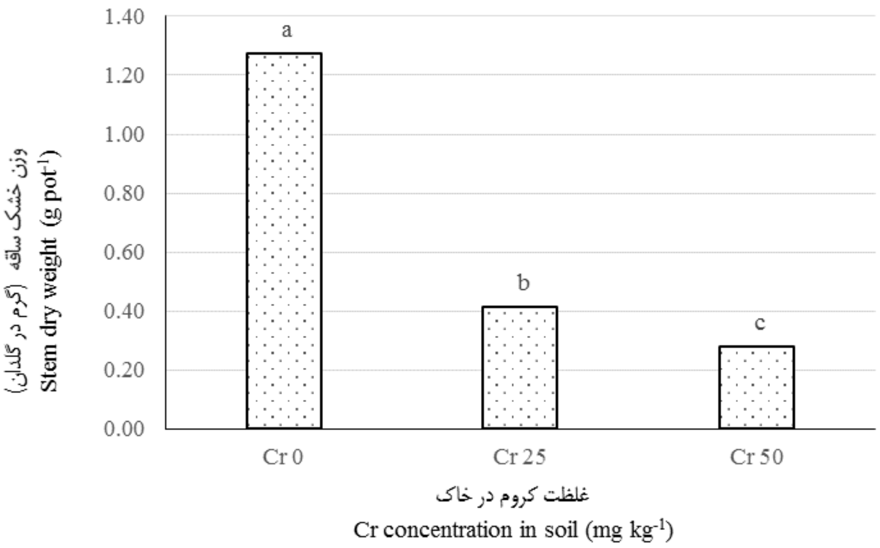
شکل ۲- اثر متقابل سطوح کروم × اسید هیومیک بر وزن خشک ریشه کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 2– The interaction effect of Cr ×humic acid levels on root dry weight of *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)



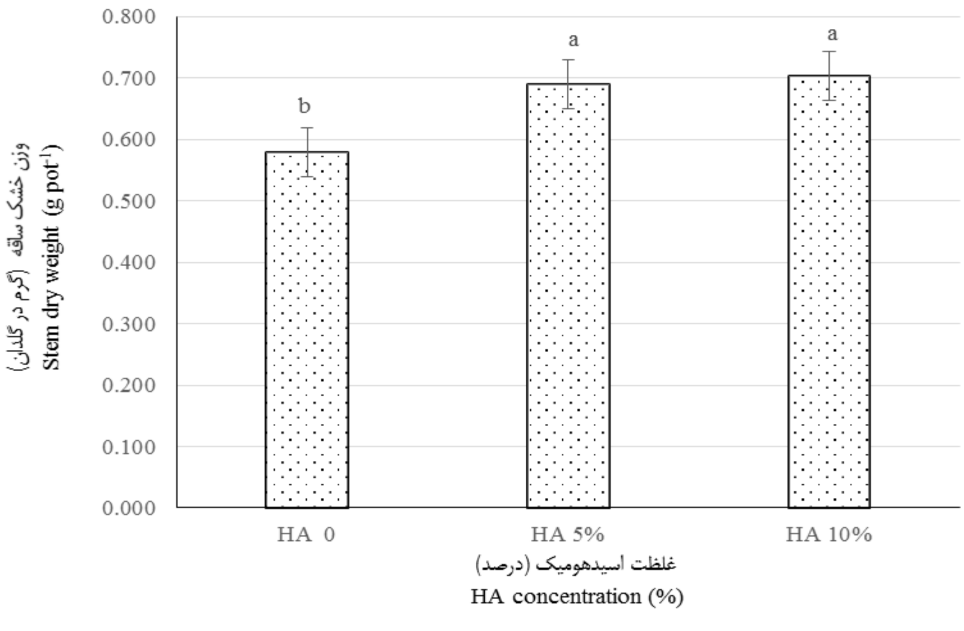
شکل ۳- اثر متقابل سطوح کروم × اسید هیومیک بر وزن خشک شاخساره کاهوسالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 3 –The interaction effect of Cr ×humic acid levels on shoot dry weight of *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)



شکل ٤- اثر سطوح کروم بر وزن خشک ساقه کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 4- The effect of Cr levels on stem dry weight of *Lactuca sativa* L. var. longifolia ($p < 0.05$)



شکل ٥- اثر سطوح اسید هیومیک بر وزن خشک ساقه کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 5– The effect of humic acid levels on stem dry weight of *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)

اثر ساده سطوح اسید هیومیک بر وزن خشک بـرگ، شاخساره و ریشه کاهو نشان داد که افزایش سطح ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک، وزن خشک برگ را بـه‌ترتیـب معـادل ۹/۴ ٪ و ۳۴٪ (شکل ۱)، وزن خشک شاخساره را بـه ترتیـب معـادل ۱۱٪ و۳۲٪ (شـکل ۳) و وزن خشک ریشـه را معـادل ۷/۳ ٪ و ۲۹٪ (شـکل ۲) نسـبت بـه شـاهد افزایش دادند. به نظر می‌رسد تأثیر اسیدهیومیک بـر افـزایش زیسـت توده هوایی بیشتر از زیست توده ریشه می‌باشد.

اثر ساده سطوح کروم بر زیست توده ساقه نشان داد که با افزایش سطوح ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم خاک، وزن خشـک سـاقه کاهش معنی‌دار به‌ترتیب معادل ۲۰۷٪ و ۳۵۵٪ نسبت به شاهد داشت (شکل ۴). همچنین با افزایش اسیدهیومیک ۵ درصد و ۱۰ درصد وزن خشک ساقه به ترتیب معادل ۱۹٪ و ۲۱٪ افزایش معنی‌دار نشـان داد (شکل ۵)؛ که سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک باهم اختلاف معنی دار نداشتند.

نتایج ارائه شده اثر متقابل کروم و اسیدهیومیک نشان دادند که اسید هیومیک تأثیر سوء کروم بر رشد کاهو را کاهش داد، به‌طوری که سطح ۵۰ میلی‌گرم کروم برکیلوگرم + سطح صفر اسید هیومیک منجر به کاهش وزن خشک برگ، شاخساره و ریشه به‌ترتیب معادل ۳۲۷٪ ، ۳۶۰٪ و ۱۳۸٪ نسبت به تیمار شاهد (Cr_0 HA_0) شده و سطح ۵۰ میلی گرم کروم بر کیلوگرم+ ۵ درصد اسید هیومیک، این کاهش را به‌ترتیب معادل ۲۳۵٪، ۲۴۹٪ و ۱۰۴٪ درصد نسبت به تیمار شاهد (Cr_0 HA_5) و سطح ۵۰ میلی گرم کروم برکیلوگرم + سطح ۱۰ درصد اسید هیومیک این کاهش را به ۱۰۶٪، ۱۳۱٪ و ۵۳٪ نسبت به شاهد (Cr_0 HA_{10}) رساند. به نظر می‌رسد کاهش اثر بازدارندگی کروم در همه اجزاء گیاه، در اثر کاربرد اسید هیومیک در سطوح بیشتر کروم بیش از سطوح کمتر کروم باشد به‌طوری که با کاربرد ۲۵ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم خاک + اسید هیومیک ۵ درصد و ۱۰ درصد، وزن خشک برگ بترتیب ۱۹/۵٪ و ۷۱/۲٪ و در سطح ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم به‌رتیب ۲۹٪ و ۱۱۰٪ نسبت به شاهد هر یک (Cr25 HA0 و Cr50 HA0) افزایش یافت (شکل ۱). افزایش اسید هیومیک ۵ درصد و ۱۰ درصد در سطح ۲۵ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم خاک وزن خشک شاخساره را به‌ترتیب ۲۲٪ و ۶۷٪ نسبت به شاهد (Cr25 HA0) و در سطح ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم به ترتیب ۳۵٪ و ۱۰۴٪ نسبت به شاهد (Cr50 HA0) افزایش داد (شکل ۳). همچنین در سطح ۲۵ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم خاک + اسید هیومیک ۵ درصد و ۱۰ درصد، وزن خشک ریشه به‌ترتیب ۱۴٪ و ۵۰٪ نسبت به شاهد (Cr25 HA0)، و در سطح ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم به ترتیب ۱۷٪ و ۵۷٪ نسبت به شاهد (Cr50HA0) افزایش یافت (شکل ۲). بیشترین میزان وزن خشک اجزاء مختلف گیاه در هر سطح کروم، با کاربرد اسید هیومیک ۱۰ درصد و کمترین مقدار، بدون کاربرد اسید هیومیک در هر تیمار کروم مشاهده شد. همچنین با مقایسه درصد افزایش زیست توده در اثر کاربرد اسیدهیومیک در اجزاء مختلف کاهو، می‌توان نتیجه گرفت که در شرایط تنش کروم، اثر بخشی اسید هیومیک بر افزایش زیست توده هوایی بیشتر از ریشه می‌باشد. کاهش جذب و به‌کارگیری مواد غذایی یکی از اثرات مهم شناخته شده فلزات سمی بر روی گیاهان می‌باشد (Shanker *et al.*, 2005). در پژوهشی دیاس و همکاران (Dias *et al.*, 2016) در اثر کاربرد کروم، کاهش غلظت برخی از عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف را در کاهو گزارش و عنوان کردند که کروم علاوه بر اختلال در جذب آهن، منیزیم، روی و پتاسیم، بر رنگدانه‌ها، مقدار پروتئین، قند و همچنین واکنش‌های فتوسنتزی تأثیر منفی دارد. فرآیندهای فتوشیمیایی فتوسنتز نسبت به چرخه کالوین به سمیت کروم حساس‌تر بوده و فتوسنتز هدف اصلی بازدارندگی کروم شش ظرفیتی است. تنش کروم یکی از عوامل مهمی است که بر فتوسنتز از طریق تأثیر بر تثبیت CO_2، انتقال الکترون، فسفری شدن نوری[1] و فعالیت آنزیمی مؤثر می‌باشد. اثر کلی یون‌های کروم بر فتوسنتز و تحریک انتقال انرژی نیز می‌تواند به دلیل ناهنجاری‌های ناشی از کروم شش ظرفیتی در فراساختار کلروپلاست باشد (Shanker *et al.* 2005). اکسین و اکسین (Akcin and Akcin, 2019) نشان دادند که کاربرد سطوح مختلف کروم منجر به کاهش کاروتونوئید،کلروفیل کل، کلروفیل a و b در گیاه گندم گردید و با افزایش اسید هیومیک، نسبت کلروفیل a/b و مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA)[2] در گیاه در مقایسه با تیمارهای بدون اسید هیومیک، افزایش یافت که نشان داد کاربرد اسید هیومیک با تنظیم فعالیت‌های فتوسنتزی منجر به کاهش اثرات سوء تنش کروم در گیاه شد. همچنین توفکنسی و همکاران (Tüfenkçi *et al.*, 2006) با بررسی تأثیر سطوح مختلف اسید هیومیک بر مقادیر عناصر سنگین و رشد گیاه کاهو در خاک‌های آلوده به لجن فاضلاب عنوان کردند که کاربرد اسید هیومیک با کاهش عناصر سنگین مانند کروم، کبالت و کادمیوم منجر به بهبود رشد گیاه کاهو گردید.

غلظت کروم در شاخساره و ریشه

تجزیه واریانس اثر سطوح کروم و اسید هیومیک، بر غلظت کروم در شاخساره و ریشه، فاکتور انتقال و فاکتور انباشت شاخساره و ریشه در کاهو نشان داد که تأثیر کروم، بر پارامترهای ذکر شده معنی‌دار بود. همچنین اثر کاربرد سطوح مختلف اسید هیومیک بر همه این موارد معنی‌دار بود. اثر برهمکنش کروم و اسیدهیومیک نیز، در همه موارد غیر از فاکتور انباشت زیستی شاخساره معنی‌دار بود (جدول ۳).

میانگین غلظت کروم در شاخساره و ریشه کاهو نشان داد که با افزایش سطوح کروم در خاک، غلظت کروم در ریشه و شاخساره گیاه به طور قابل توجهی بیش از شاهد بود (جدول ۴). در سطح صفر اسید هیومیک + ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم، غلظت کروم در شاخساره از ۰/۰۱۶ به ۳۷/۷ و در ریشه از ۰/۰۵۱ به ۳۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه رسیده است. در پژوهش های پیشین، افزایش غلظت کروم در اثر آلایندگی کروم در کاهو (Raptis *et al.*, 2018; Park 2020; Dias *et al.*, 2016)، گوجه فرنگی (Christou *et al.*, 2021a; Christou *et al.*, 2021b) و اسفناج (Jahanbakhshi *et al.*, 2014) گزارش شده است.

با افزایش سطوح اسیدهیومیک، غلظت کروم شاخساره به طور معنی‌دار کاهش یافت. همچنین افزایش سطوح اسیدهیومیک موجب افزایش معنی‌دار غلظت کروم ریشه شد. افزایش سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک، غلظت کروم را در شاخساره به ترتیب ۱۸٪ و ۸۳٪

1- photophosphorylation

2- malondialdehyde

کـاهش، و در ریشــه ۱۸٪ و ۲۹٪ نسـبت بـه شـاهد افـزایش داد. (جدول ۴). داده‌های مربوط به غلظت کروم در بافت‌های کاهو نشـان دادند که قسمت اعظم عنصر جذب شده در ریشه‌ها انباشته شده است و تنها بخش کوچک‌تری به اندام هوایی منتقل شده است (جـدول ۴). در پژوهش‌های پیشین تجمع بیشتر کروم در ریشه نسبت به اندام‌های هوایی در کاهو (Raptis *et al*., 2018) و اسفناج (Alashti *et al*., 2013) گزارش‌شده است. احتمالاً کروم در مکان‌های خارج سلولی بـا بار منفی (به‌عنوان مثال، –COO–) دیواره سلولی ریشه جذب می‌شود بنابراین، بی‌تحرکی کروم در واکوئل‌های سـلول‌هـای ریشـه رخ داده است (Sinha *et al*., 2018). انتقال ضعیف کروم به اندام‌های هوایی می‌تواند به دلیل جداسازی[1] بیشتر کروم در واکوئل‌هـای سـلول‌هـای ریشه باشد تا سمیت عنصر را در گیاه کم کند و احتمـالاً یـک پاسـخ طبیعـی بـه سـمیت عناصـر سـنگین در گیـاه مـی‌باشـد (Sauerbeck, 1991 ; Riaz *et al*., 2019). همان‌گونه کـه انتظـار می‌رفت غلظت کروم در شاخساره گیاهانی کـه تیمـار ۵ و ۱۰ درصـد اسید هیومیک دریافت کردند نسبت به شاهد کاهش معنـی‌دار نشـان دادند؛ به‌گونه‌ای که بـا افـزودن سـطوح ۵ درصـد و ۱۰ درصـد اسـید هیومیک و کاربرد سطح ۲۵ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم، غلظت کـروم در شاخساره از ۱۷/۸ در شـاهد (Cr25HA0) بـه ترتیـب بـه ۱۴/۷ و ۱۱/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌رسد که معادل ۲۱٪ و ۵۸٪ کاهش می باشد و با کاربرد سطح ۵۰ میلی‌گـرم کـروم برکیلـوگرم، غلظـت ایـن عنصر در شاخساره از ۴۷/۷ برای شاهد (Cr50HA0) به ترتیب ۴۰/۸ و ۲۴/۶ میلی‌گرم برکیلوگرم می‌رسد که معـادل ۱۷٪ و ۹۴٪ کـاهش غلظت می‌باشد. (جدول ۴). در ریشه کـاربرد ایـن اصـلاح کننـده اثـر مثبت و معنی‌دار بر غلظت کروم ریشه داشت به‌گونه‌ای که کاربرد ۵ و ۱۰ درصد اسید هیومیک در سطح ۲۵ میلـی‌گـرم کـروم برکیلـوگرم، غلظت کروم را از ۱۱۴ برای شاهد (Cr25HA0) به ترتیب بـه ۱۴۳ و ۱۵۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش داد که معادل ۲۶٪ و ۳۶٪ افزایش می‌باشد، هرچند بین سطوح ۵ درصد و ۱۰ درصد اسیدهیومیک تفاوت معنی‌دار وجود نداشت؛ و در سطح ۵۰ میلـی‌گـرم کـروم بـر کیلـوگرم خاک، غلظت کروم در ریشـه از ۲۹۱ بـرای شـاهد (Cr50HA0) بـه ترتیب به ۳۳۲ و ۳۶۸ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن خشک مـی‌رسـد کـه معادل ۱۴٪ و ۲۶٪ افزایش می‌باشد.

بیشینه غلظـت کـروم در شاخسـاره در تیمـار ۵۰ کـروم و بـدون مصرف اسید هیومیک (۴۷/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کمتـرین مقـدار کروم در هر تیمار کروم، با مصرف ۱۰ درصد اسید هیومیک مشـاهده شد. در ریشه بیشترین غلظت کروم (۳۶۸ میلی‌گـرم بـر کیلـوگرم) در تیمـار ۵۰ میلـی‌گـرم برکیلـوگرم کـروم و بـا کـاربرد ۱۰ درصـد اسیدهیومیک مشاهده شد.

در پژوهش‌های پیشین کاهش اثرات سمیت کروم با مصرف اسید هیومیـک و کـروم در گیاهـان مختلـف گـزارش شـده اسـت (Kalčíková *et al*., 2016; Akcin and Akcin, 2019). منطقی‌ترین توضیح برای قابلیت دسترسی کم کروم در حضـور اسـید هیومیک این است که اکثر کروم سه‌ظرفیتی ایجاد شده از احیـاء‌کروم شش ظرفیتی توسط اسید هیومیک کمپلکس شده و برای جذب گیـاه در دسترس نیست. علاوه بر این، جذب کروم در ریشه گیاه بـه گونـه کروم بستگی دارد؛ کروم سه‌ظرفیتی به‌طور غیرفعال با انتشار ساده در مکـان‌هـای تبـادل کـاتیونی دیـواره‌هـای سـلولی جـذب مـی‌شـود (Singh *et al*., 2013) درحالی‌که کروم شش ظرفیتی به‌طور فعال (با هدایت متابولیکی) توسـط نـاقلان سـولفات حمـل مـی‌شـود و درون ریشه‌ها، کروم شش ظرفیتی بلافاصله به کـروم سـه‌ظرفیتـی تبـدیل می‌شود (Shanker *et al*., 2005). در پژوهش گلخانه‌ای که رپتیس و همکاران (Raptis *et al*., 2018) روی خاک آهکـی و گیـاه کـاهو تحت تنش کروم و در حضور مقادیر متفـاوت لئوناردیـت[2]– کـه گونـه اکسید یافته لیگنیت بوده و دارای مقادیر بالای اسید هیومیـک مـی-باشد– به‌عنـوان مـاده آلـی، انجـام دادنـد؛ کمتـرین مقـدار کـروم در شاخساره را بعد از افزودن بیشترین مقدار لئوناردیت مشاهده و عنـوان کردند که کاربرد ماده آلی تجمع کروم در شاخساره کاهو را ۹۲ درصـد کاهش داد که نشان مـی‌دهـد افـزودن مـواد آلـی ماننـد لئوناردیـت، به‌عنوان دهنده الکترون در واکنش احیاء کروم شش ظرفیتی به کروم سه ظرفیتی عمل کرده و ازاین طریق موجب کاهش قابلیت دسترسی کروم به کاهو گردید.

در پژوهشی که توفنکسی و همکاران (Tüfenkçi et al., 2006) با به کار بردن غلظت‌های متفاوت اسید هیومیک و لجـن فاضـلاب– که حاوی مقادیر بالای عناصر سنگین می‌باشد – در گیاه کاهو بهبـود رشد و جذب عناصر غذایی پرمصرف و کـم مصـرف ماننـد نیتـروژن، فسفر و پتاسیم غلظت آهن، کلسیم و منیزیم در برگ کاهو و افـزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی خاک مانند تـنفس، نیتریفیکاسـیون و معـدنی شدن نیتروژن را مشاهده کردنـد. اسـید هیومیـک احتمـالاً بـر تعـداد باکتری‌های هتروتروف و اتوتروف‌های نیتریفایر[3] در خاک تأثیر قابـل ملاحظه‌ای دارد و مکانیسمی که از طریق آن اسیدهای هیومیـک بـر میکروب‌های خاک و گیاه اثرگذار هست، ممکـن اسـت بـه‌طورعمـده شـامل افـزایش نفوذپـذیری غشـای سـلولی بـه مـواد مغـذی باشـد (Valdrighi *et al*., 1996). وو و همکاران (Wu *et al*., 2017) بـا بررسی اسید هیومیک‌های با منشـأ متفـاوت نشـان دادنـد کـه اسـید هیومیک با مقادیر بیشتر کربن فنلی و کـربن اکسـیژن–الکیـل دارای توانایی بهتر برای احیاء کروم شش ظرفیتی است. کربن فنلی و کربن اکسیژن–الکیل، مانند الیگوسـاکارید و مونوسـاکارید موجـود در اسـید هیومیک‌ها مواد احیاکننده کروم شش ظرفیتی هستند.

1- sequesterization

2- leonardite

3- nitrifier

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر سطوح کروم و اسید هیومیکبر غلظت کروم در شاخساره و ریشه، فاکتور انتقال و فاکتور انباشت شاخساره و ریشه در کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Table 3- ANOVA for the effect of Cr and humic acid levels on Cr concentration in shoot and root, translocation factor and shoot and root bioaccumulation factor in *Lactuca sativa* L. var. longifolia

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی df	میانگین مربعات Means squares محتوی کروم شاخساره Cr co. in Shoot	محتوی کروم ریشه Cr co. in Root	فاکتور انتقال Translocation factor	فاکتور انباشت شاخساره Shoot Bioaccumulation factor	فاکتور انباشت ریشه Root Bioaccumulation factor
کروم Cr	2	3250 **	247803 **	0.0203 **	13.0 **	819 **
اسید هیومیک Humic acid (HA)	2	228 **	3502 **	0.0080 **	0.415 **	130 **
Cr × HA	4	113 **	1134 *	0.0022 **	0.163 ns	25.4 **
خطا Error	18	10.4	273	0.0001	0.058	2.36
ضریب تغییرات CV (%)		12.7	8.75	8.61	11.3	8.60

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and **:non-significant and significant at $p\leq 0.05$ and $p\leq 0.01$, respectively

جدول ٤- تأثیر سطوح اسید هیومیک بر مقدار کروم در ریشه، شاخساره و فاکتور انتقال، فاکتور انباشت زیستی شاخساره و ریشه کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو' تحت آلودگی کروم

Table 4– The effect of humic acid levels on shoot and root Cr content,translocation factor, shoot and root bioaccumulation factor of *Lactuca sativa* L. var. longifoliaunder Cr contamination

Cr (mg kg^{-1})	0			25			50		
اسید هیومیک Humic acid (%)	0	5	10	0	5	10	0	5	10
غلظت کروم در شاخساره Shoot Cr concentration (mg.kg^{-1})	0.0016 e	0.0016 e	0.0017 e	17.8 d	14.7 de	11.3 e	47.7 a	40.8 b	24.6 c
غلظت کروم در ریشه Root Cr concentration (mg.kg^{-1})	0.049 f	0.051 f	0.052 f	113 e	143 d	154 d	291 c	332 b	367 a
فاکتور انتقال Translocation factor	0.032 e	0.032 e	0.032 e	0.156 a	0.103 c	0.073 d	0.164 a	0.122 b	0.067 d
فاکتور انباشت ریشه Root bioaccumulation factor	3.85 f	3.90 f	4.83 f	14.4 e	18.8 cd	24.3 b	16.9 de	20.4 c	28.5 a

در هر ردیف، مقادیری که دارای یک حرف مشترک هستند، طبق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).

In each row, values having a common letter are not significantly different ($P \leq 0.05$) according to LSD test.

به‌طور خلاصه، افزایش تثبیت[1] کروم شش ظرفیتی خاک ناشی از افزودن مواد آلی را می‌توان به سه مکانیسم نسبت داد: ۱) احیـاء غیـر زیستی کروم شش ظرفیتی به کروم سه‌ظرفیتی با ارائه منـابع دهنـده الکترون ۲) احیاء زیستی میکروارگانیسم‌هـا کـه توسـط بسـتر کـربن تحریک شده‌اند و ۳) کاهش مقدار پتانسیل رداکس خاک باعث احیـاء کروم شش ظرفیتی می‌شود. برای کروم شش ظرفیتی می‌تواند به‌طور مستقیم توسط مواد آلی احیاء شود که گروه‌های عاملی موجود در ایـن مواد که غنی از الکترون هستند (به‌عنـوان‌مثـال، گـروه‌هـای فنـولی،

1- immobilization

هیدروکسیل، کربوکسیل و آلدئیدی) نقش مهمی در احیا کروم شش ظرفیتی دارند که علاوه بر داشتن نقش اهداکننده الکترون برای احیاء کروم شش ظرفیتی، می‌توانند در کمپلکس کردن کروم نیز شرکت کنند (Yang *et al*., 2021). چهار مرحله برای مکانیسم ماندگاری[1] کروم شش ظرفیتی توسط اسید هیومیک عنوان شده است: ۱) جذب الکتروستاسیک کروم شش ظرفیتی روی سطح اسید هیومیک ۲) کمپلکس شدن کروم شش ظرفیتی توسط کربوکسیل و استر ۳) احیاء کروم شش ظرفیتی کمپلکس شده به کروم سه‌ظرفیتی توسط فنل و پلی‌ساکارید ۴) کروم سه ظرفیتی احیاشده توسط گروه‌های کربوکسیل کمپلس می‌شود (Zhang *et al*., 2017). این گروه‌های عاملی مؤثر در ماندگاری کروم شش ظرفیتی در ناحیه آروماتیک واقع شده‌اند. ناحیه آروماتیک اسید هیومیک با گروه‌های عملکردی قطبی مانند گروه‌های فنل و کربوکسیل مکان‌های عمده هستند که در احیاء کروم شش ظرفیتی شرکت می‌کنند (Chen *et al*., 2011).

کروم شش ظرفیتی با مواد هیومیکی در محدوده وسیعی از مقادیر pH موجود در محیط واکنش داده و به کروم سه‌ظرفیتی احیا می‌شود. احیا کروم شش ظرفیتی سمیت کروم را کاهش می‌دهد و کروم سه‌ظرفیتی ایجاد شده توسط این فرایند، به‌شدت توسط پیوند درون کره‌ای[2] با اسیدهای هیومیک حفظ می‌شود، که به‌طور قابل‌توجهی فرصت انتشار کروم سه‌ظرفیتی یا اکسیداسیون مجدد به گونه‌های متحرک کروم شش ظرفیتی را کاهش می‌دهد (Aldmour *et al*., 2019). وجود گروه‌های عاملی آروماتیک و جزء دارای اکسیژن موجب افزایش سرعت واکنش احیاء این عنصر می‌شود (Huang *et al*., 2012). گروه‌های عملکردی برای اجزاء مختلف هوموس، دارای ترتیب ترجیحی برای واکنش با کروم شش ظرفیتی به ترتیب کربوکسیل>فنل>هیدروکسیل>کربوکسیل کلاته>متیل>متیلن می‌باشند. بعلاوه، گروه‌های کربوکسیل به احتمال زیاد، به‌عنوان یک لیگاند برای کمپلکس کردن کروم عمل می‌کند (Zhang *et al*., 2019).

اسید هیومیک با کمپلکس کردن کروم سه ظرفیتی و کاهش قابلیت دسترسی آن برای گیاه، موجب کاهش غلظت کروم در گیاه می‌شود. علاوه بر این، جذب کروم در ریشه گیاه به گونه کروم بستگی دارد: کروم سه‌ظرفیتی به صورت غیرفعال با انتشار ساده در مکان‌های تبادل کاتیونی دیواره‌های سلولی جذب می‌شود (Singh *et al*., 2013) حال‌آنکه کروم شش ظرفیتی به‌طور فعال (با هدایت متابولیکی) توسط ناقلان سولفات حمل می‌شود در داخل ریشه‌ها، کروم شش ظرفیتی، بلافاصله به کروم سه‌ظرفیتی تبدیل می شود (Shanker *et al*., 2005). همچنین در مطالعات پیشین ذکرشده است که پس از جذب کروم توسط ریشه‌ها از محلول غذایی به شکل گونه کروم سه یا کروم شش ظرفیتی، به‌خوبی به‌جای دیگر منتقل نمی‌شود و تا حد زیادی در ریشه گیاهان باقی می‌ماند (Kalčíková *et al*., 2016).

فاکتور انتقال (TF)

برای درک بهتر توزیع کروم، فاکتور انتقال (TF) به‌عنوان یک پارامتر معتبر برای ارزیابی تأثیر اسید هیومیک بر توزیع کروم در گیاه انتخاب شد. بیشترین فاکتور انتقال کروم شاخساره در این آزمایش ۰/۱۶۴ بود (جدول ۴) که نشان می‌دهد تنها بخش بسیار کمی از کروم از ریشه به اندام هوایی منتقل شده است. این مطالعه نشان داد که اندام‌های مختلف کاهو توانایی‌های جذبی متفاوتی از کروم را نشان می‌دهند و ریشه‌های گیاه نسبت به برگ، توانایی بیشتری برای جذب کروم دارند. تجمع بیشتر کروم در ریشه‌ها نسبت به اندام هوایی در این پژوهش با یافته‌های قبلی مطابقت دارد که غلظت بیشتر کروم در ریشه‌ها را به ذخیره کروم در واکوئل‌های ریشه نسبت دادند (Shanker *et al*., 2005 ; Riaz *et al*,. 2019).

افزایش سطوح کروم موجب افزایش معنی‌دار فاکتور انتقال شد؛ به طوری که در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم کروم برکیلوگرم خاک، فاکتور انتقال از ۰/۰۳۲ برای شاهد، به ترتیب به ۰/۱۱۱ و ۰/۱۱۸ افزایش یافت، هرچند این تفاوت بین سطوح ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم از نظر آماری معنی‌دار نبود. انتقال کروم از ریشه به اندام هوایی، در تیمار ۲۵ و۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروم حداکثر بود و حداقل این فاکتور در تیمار صفر کروم مشاهده شد. این بدان معنی است که انتقال مؤثر از ریشه به اندام هوایی در غلظت‌های بیشتر کروم صورت گرفته است. به‌طور کلی فرض بر این است که انتقال کروم تنها زمانی رخ می‌دهد که غلظت آن بالاتر از سطح سمیت باشد (Ertani *et al*., 2017) .

افزایش سطوح اسیدهیومیک اثر کاهشی معنی‌دار بر فاکتور انتقال کروم داشت (جدول ۴)، به گونه‌ای که فاکتور انتقال کروم از ۰/۱۱۷ برای تیمار صفر اسیدهیومیک، با افزودن ۵ و ۱۰ درصد این اصلاح کننده به ۰/۰۸۶ و ۰/۰۵۸ رسید که معادل ۳۷ ٪ و ۱۰۳٪ کاهش بود.

کاربرد همزمان اسید هیومیک و کروم، فاکتور انتقال را در مقایسه با گیاهان تیمار شده با کروم به‌تنهایی، کاهش داد. در خاک حاوی کروم ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاربرد اسید هیومیک به مقدار ۵ درصد و ۱۰ درصد، فاکتور انتقال از ۰/۱۵۶ برای شاهد (Cr25HA0) به‌ترتیب به ۰/۱۰۳ و ۰/۰۷۳ رسید که معادل ۵۲٪ و ۱۱۳٪ کاهش می‌باشد. برای تیمار ۵۰ میلی‌گرم کروم برکیلوگرم نیز افزایش این سطوح اسیدهیومیک فاکتور انتقال را به‌ترتیب از ۰/۱۶۴ برای شاهد (Cr50HA0) به ۰/۱۲۲ و ۰/۰۶۷ رساند که ۳۴٪ و ۱۴۳٪ نسبت به شاهد کاهش داشت. این یافته ممکن است مربوط به افزایش جذب و

1- retention
2- inner-sphere

تجمع کروم در ریشه و رسوب بر روی سطح ریشه باشد که در نتیجه از انتقال فلز از ریشه به اندام هوایی جلوگیری می‌کند. در مطالعات پیشین ذکر شده است که پس از جذب کروم توسط ریشه‌ها از محلول غذایی- به شکل گونه کروم سه یا کروم شش ظرفیتی- به‌خوبی به جای دیگر منتقل نمی‌شود و تا حد زیادی در ریشه گیاهان باقی می ماند (Kalčíková *et al.*, 2016). ممکن است بخش‌بندی (کده بندی)[1] و جابجایی در سیستم آوندی، دلیل اصلی تفاوت توزیع این عنصر در بخش‌های مختلف گیاه باشد (Kim *et al*., 2003).

مقادیر زیاد TF نشان می‌دهد که فلزات سنگین بیشتری از ریشه به اندام هوایی منتقل‌شده‌اند، درحالی‌که مقادیر کم TF گویای این مطلب است که فلزات سنگین بیشتری پس از جذب گیاه در ریشه باقی مانده‌اند. کاهش TF به این معنی نیست که جرم فلز سنگین جذب‌شده توسط گیاه کاهش یافته است. این فاکتور به‌سادگی نسبت غلظت فلزات سنگین در اندام هوایی و ریشه را نشان می‌دهد (Park *et al*., 2013). به نظر می‌رسد کاربرد این اصلاح‌کننده آلی علاوه بر تأثیر بر غلظت کروم، بر توزیع کروم در قسمت‌های مختلف نیز تأثیر داشته و موجب کاهش انتقال به قسمت‌های خوراکی گیاه شده است.

فاکتور انباشت زیستی شاخساره و ریشه

توانایی گیاهان در جذب فلزات سنگین به دلیل ظرفیت‌های مختلف آن‌ها در اتصال با ذرات خاک، همچنین به دلیل برهمکنش ریشه گیاه و فلز که ممکن است بسته به نوع فلزات متغیر باشد، متفاوت هستند. فاکتور انباشت زیستی (BAF)، شاخصی از توانایی جذب فلز خاص از خاک به ریشه و سپس انتقال به قسمت‌های هوایی محصولات گیاه هست و برای تخمین میزان تجمع فلزات سنگین توسط گیاهان تحت تیمارهای مختلف محاسبه شد.

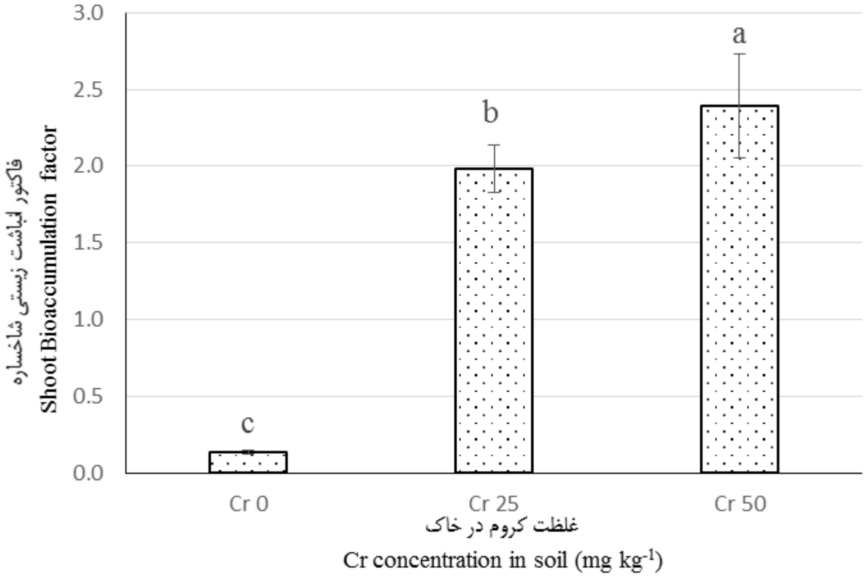
افزایش سطوح کروم در خاک، موجب افزایش معنی‌دار انباشت زیستی شاخساره شد (شکل ۶) به‌طوری که با کاربرد ۲۵ و ۵۰ میلی گرم کروم بر کیلوگرم، این فاکتور از ۰/۱۳۵ (در تیمار صفر کروم) به ترتیب به ۱/۹۸ و ۲/۳۹ رسید. آلفارو و همکاران (Alfaro *et al*., 2022) در مقایسه گیاهان مختلف تحت تنش عناصر سنگین در خاک، بیشترین فاکتور انباشت را برای سبزی‌های برگی مانند پیازچه و کاهو، گزارش و عنوان کردند که تجمع و توزیع کروم در گیاه نه‌تنها به ویژگی‌های خاک و غلظت فلزات، بلکه به گونه‌های گیاهی نیز بستگی دارد. به‌عنوان مثال، تولید ترشحات ریشه، به‌طور عمده اسیدسیتریک و اگزالیک، می‌تواند با ایجاد کمپلکس با فلزات، پایداری گونه‌های نامحلول کروم را در خاک افزایش و در نتیجه جذب و تجمع کروم در گیاه را افزایش می‌دهد.

افزایش اسیدهیومیک به تنهایی موجب کاهش فاکتور انباشت شاخساره شده‌است (شکل ۷). با افزایش ۵ درصد و ۱۰ درصد اسیدهیومیک به خاک، این فاکتور را درتیمار شاهد از ۱/۷۱ به ترتیب به ۱/۵۲ و ۱/۲۸ رساند هرچند بین سطوح صفر و ۵ درصد اسیدهیومیک از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. برهمکنش کروم و اسیدهیومیک بر فاکتور انباشت شاخساره معنی‌دار نبود.

جدول تجزیه واریانس نشان داد کاربرد سطوح مختلف کروم موجب افزایش معنی‌دار در فاکتور انباشت ریشه شده است به‌طوری که کاربرد ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروم، این فاکتور را از ۴/۱۹ برای شاهد به‌ترتیب به ۱۹/۲ و ۲۱/۹ افزایش داد (جدول ۴). کاربرد سطوح ۵ درصد و ۱۰ درصد اسیدهیومیک موجب شد فاکتور انباشت ریشه از ۱۱/۷ برای شاهد به‌ترتیب به ۱۴/۴ و ۱۹/۲ افزایش یابد. کاربرد همزمان کروم و اسیدهیومیک نشان داد که با افزایش ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک، در تیمار ۲۵ میلی‌گرم کروم برکیلوگرم، این فاکتور از ۱۴/۴ برای شاهد (Cr25HA0) به ترتیب به ۱۸/۸ و ۲۴/۳ رسید که معادل ۳۰٪ و ۶۸٪ افزایش در این فاکتور نسبت به شاهد مشاهده شد.

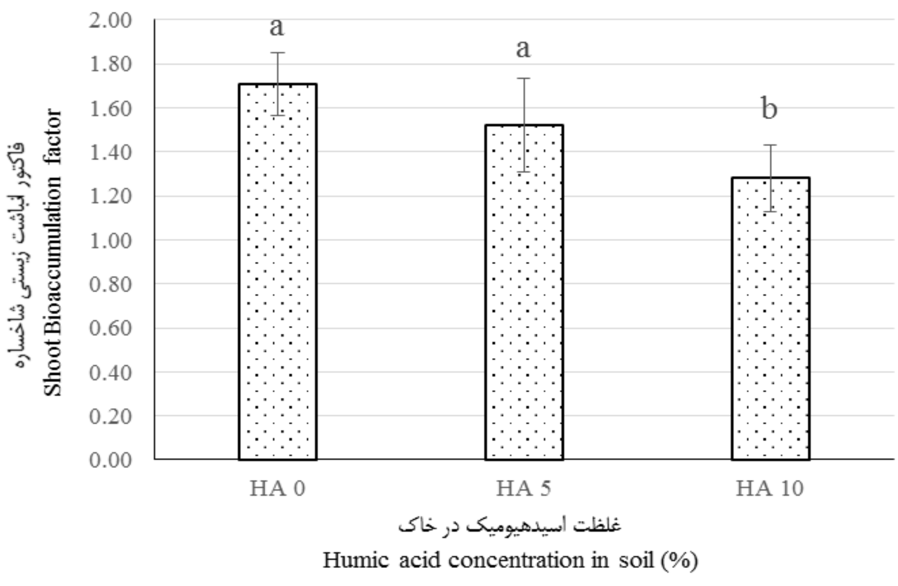
مقایسه انباشت زیستی شاخساره و ریشه، نشان داد فاکتور انباشت در ریشه بیشتر از انباشت زیستی شاخساره می‌باشد. بیشتر بودن این فاکتور در ریشه کاهو گویای این مطلب است که گیاه در مقابله با تنش کروم کارآمدی بالاتری به انباشت این عنصر در ریشه دارد تا انتقال به قسمت‌های خوراکی گیاه. عوامل بیوژئوشیمیایی مختلف مانند وضعیت فیزیکی خاک، حرکت عناصر کمیاب در خاک، بافت و ساختمان خاک، گونه‌های گیاهی و ژنوتیپ‌های موجود در همان گونه‌های گیاهی نقش مهمی در جذب عناصر سنگین در گیاهان دارند. همچنین جابجایی این عناصر در گیاهان تحت تأثیر عوامل متعددی مانند غلظت فلزات سنگین در خاک، شرایط آب و هوایی، نوع خاک و انواع مختلف سبزی‌ها (برگی، میوه و ریشه‌ای)، همچنین زمان برداشت و مرحله بلوغ می‌باشند. همچنین فلزات سنگین به‌طور قابل‌توجهی در سبزی‌های برگ‌دار یا ریشه‌ای در مقایسه با میوه انباشته شده‌اند (Rutigliano *et al*., 2019). قرشی و همکاران (Qureshi *et al*., 2016) بیشترین مقدار فاکتور انباشت کروم را در کاهو نسبت به گیاهان مختلف مورد بررسی مشاهده و عنوان کردند که متوسط فاکتور انباشت سبزی‌های برگی بیشتر از غیر برگی می باشد زیرا جذب عناصر توسط گیاه، علاوه بر مقدار آن در خاک، به نوع گیاه و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه بستگی دارد. کاهو توانایی انباشت غلظت‌های بیشتری از کادمیوم، سرب و کروم را در بافت‌های گیاهی نسبت به سایر سبزی‌های دارد. احتمالاً به دلیل داشتن سطح برگ بیشتر و در نتیجه تعرق بالاتر، انتقال یون‌های فلزی در کاهو با تعرق افزایش می‌یابد (Liu *et al*., 2021).

1- compartmentalization



شکل ٦- تأثیر سطوح کروم بر فاکتور انباشت زیستی شاخساره در کاهو سالادی رومیرقم 'سیاهو'

Figure 6– The effect of Cr levels on shoot bioaccumulation factor in *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)



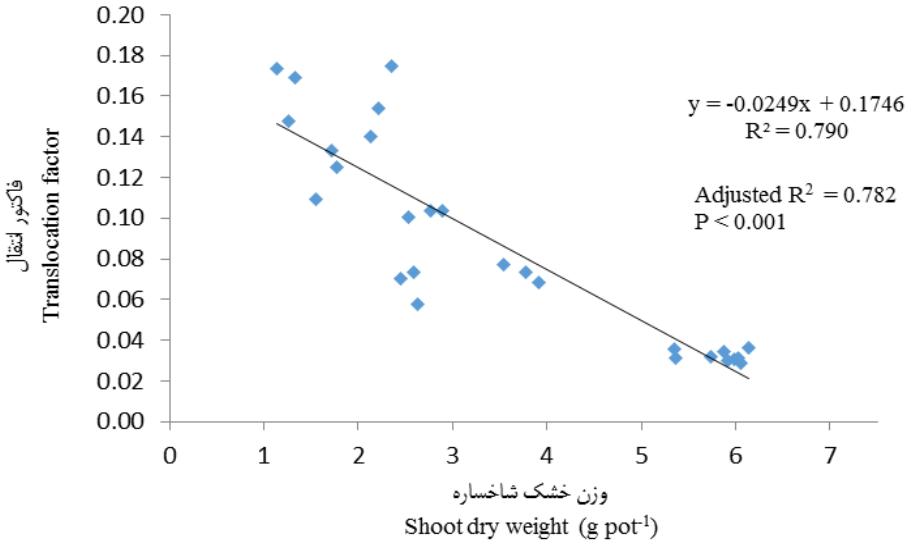
شکل ۷- تأثیر سطوح اسیدهیومیک بر فاکتور انباشت زیستی شاخساره در کاهو سالادی رومیرقم 'سیاهو'

Figure 7– The effect of humic acid levels on shoot bioaccumulation factor in *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)

روابط بین وزن خشک و فاکتور انتقال و انباشت زیستی

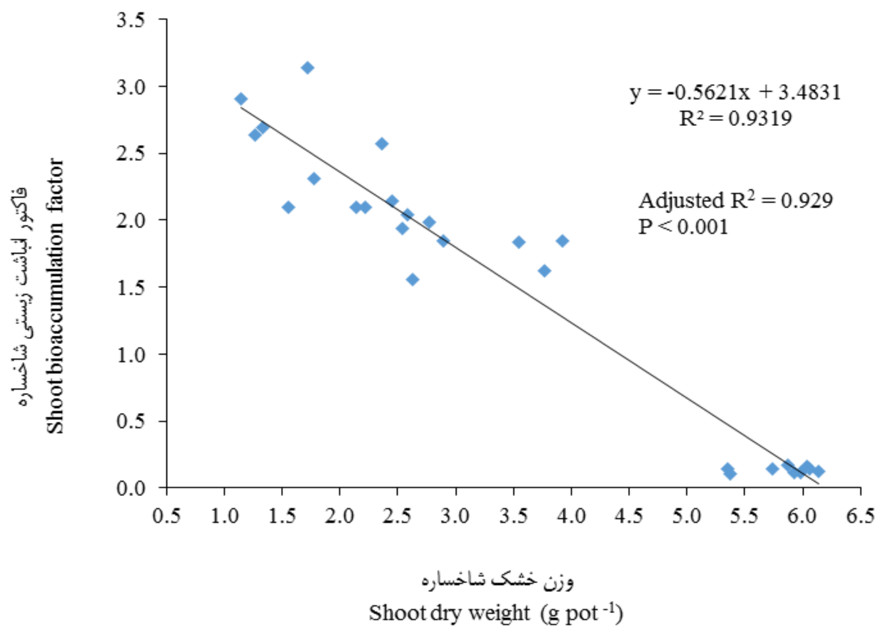
روابط بین فاکتور انتقال و انباشت زیستی کروم با مقدار زیست‌توده گیاهی به درک بهتر تأثیر کروم و ماده اصلاح‌کننده بر تجمع این آلاینده در قسمت‌های خوراکی و ریشه کاهو کمک می‌کنند. با افزایش وزن خشک شاخساره، فاکتور انتقال به‌صورت خطی و معنی‌دار کاهش یافت (۰/۷۹= R^2)، (P < ۰/۰۰۱) (شکل ۸) که نشان می‌دهد مقادیر کمتری از کروم به قسمت‌های هوایی منتقل

شده و مقادیر بیشتر کروم در ریشه گیاه باقیمانده است. مدل برازش شده توانست ۷۹ درصد از تغییرات را تبیین و با ضریب تبیین اصلاح شده (Adjusted R^2) ۰/۷۸- فاکتور انتقال را پیش‌بینی کند. در پژوهش‌های پیشین، در اثر غلظت بیشتر کروم در قسمت‌های هوایی گیاه، اثرات نامطلوب بر کاهش جوانه‌زنی بذر، پارامترهای رشد گیاه، سرعت فتوسنتز و درنتیجه کاهش عملکرد گیاه مشاهده شده است (Singh *et al.*, 2013).



شکل ۸- رابطه بین وزن خشک شاخساره با فاکتور انتقال در کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 8- Relationship between Shoot dry weight and translocation factor for Cr in *Lactuca sativa* L. var. longifolia



شکل ۹- رابطه بین وزن خشک شاخساره با فاکتور انباشت زیستی کروم شاخساره در کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 9- Relationship between shoot dry weight and shoot bioaccumulation factor for Cr in *Lactuca sativa* L. var. longifolia

افزایش وزن خشک شاخساره، موجب کاهش فاکتور انباشت زیستی شاخساره به‌صورت خطی و معنی‌دار شد (R^2 = ۰/۹۳)، (P < ۰/۰۰۱) (شکل ۹). رگرسیون خطی وزن خشک شاخساره کاهو توانست با سطح احتمال (P < ۰/۰۰۱) ۹۳٪ از واریانس فاکتور را تبیین و آن‌را با ضریب تبیین اصلاح شده (Adjusted R^2) ۰/۹۳− درصد پیش‌بینی کند.

به نظر می‌رسد تقسیم‌بندی[1] کروم در گیاهان به کنترل و مدیریت آلاینده‌ها در ریشه بستگی دارد و از اثرات مخرب این عنصر بر مکان‌های فتوسنتز، برگ‌ها و سایر فعالیت‌های متابولیکی جلوگیری می‌کند (Sinha *et al*., 2018) و در نتیجه کاهش انتقال کروم به شاخساره و در نهایت کاهش انباشت کروم در اندام‌های هوایی کاهو موجب افزایش فتوسنتز و در نهایت افزایش زیست‌توده می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سمیت کروم به‌طور قابل‌توجهی موجب کاهش پارامترهای رشد گیاه به‌عنوان مثال وزن خشک برگ، شاخساره، ساقه و ریشه، همچنین افزایش غلظت کروم در شاخساره و ریشه، فاکتور انتقال، فاکتور انباشت زیستی شاخساره و ریشه در مقایسه با شاهد شد. افزایش ۵ و ۱۰ درصد اسید هیومیک به خاک آلوده به کروم موجب افزایش زیست‌توده گردید. بیشترین مقدار وزن خشک در هر کدام از اجزاء گیاه با کاربرد ۱۰ درصد اسیدهیومیک به دست آمد هر چند در وزن خشک ساقه بین سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. همچنین کاربرد اسیدهیومیک موجب افزایش غلظت کروم ریشه و فاکتور انباشت ریشه شد؛ از طرفی کاربرد ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک غلظت کروم شاخساره، فاکتور انتقال و فاکتور انباشت شاخساره را کاهش داد. بیشترین تأثیر بر پارامتر های اندازه‌گیری شده در این آزمایش در بیشترین سطح اسیدهیومیک (۱۰٪) مشاهده شد هر چند در موارد فاکتور انباشت شاخساره بین سطح ۰ و ۵ درصد اسیدهیومیک و غلظت کروم در ریشه بین سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. مدلهای رگرسیونی نشان دادند که وزن خشک شاخساره با فاکتور انتقال و انباشت زیستی شاخساره، رابطه خطی و کاهشی داشته و با ضریب تبیین اصلاح شده زیاد، این فاکتورها را پیش‌بینی کردند. پیامد افزودن اسیدهیومیک در خاک آلوده به کروم نشان داد که با کاربرد اسید هیومیک قسمت اعظم کروم جذب شده در ریشه انباشته می‌شود که احتمالاً مربوط به مکانیسم دفاعی گیاه در برابر مقادیر بالای این آلاینده می‌باشد. بهبود رشد ریشه در اثر کاربرد اسیدهیومیک نیز در افزایش رشد گیاه مؤثر می‌باشد.کاهش انتقال به اندام‌های هوایی موجب کاهش انباشت این عنصر در شاخساره – که مکان اصلی فتوسنتز می‌باشد –شده و در نتیجه موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و در نهایت تعدیل اثرات سوء کروم بر کاهو می شود. استفاده از اسید هیومیک می‌تواند روش اقتصادی و سازگار با محیط‌زیست برای کم کردن جذب این آلاینده در قسمت‌های خوراکی گیاه و درنتیجه بهبود نسبی سلامت این محصول پرمصرف باشد.

منابع

1. AKÇİN, A., & AKÇİN, T.A. (2019). Protective effects of humic acid against chromium stress in wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Delabrad-2). *Journal of International Environmental Application and Science*, *14*(2), 50-58.
2. Alashti, S.R., Bahmanyar, M.A., & Abadi, Z.A. (2013). Changes in soil physical properties and concentrations of lead and chromium in spinach affected by enriched municipal compost. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, *17*(63), 1-11. (In Persian with English abstract)
3. Aldmour, S.T., Burke, I.T., Bray, A.W., Baker, D.L., Ross, A.B., Gill, F.L., Cibin, G., Ries, M.E., & Stewart, D. I. (2019). Abiotic reduction of Cr(VI) by humic acids derived from peat and lignite: kinetics and removal mechanism. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*(5), 4717–4729. https://doi.org/10.1007/s11356-018-3902-1
4. Alfaro, M.R., Ugarte, O.M., Lima, L.H.V., Silva, J.R., da Silva, F.B.V., da Silva Lins, S.A., & do Nascimento, C.W.A. (2022). Risk assessment of heavy metals in soils and edible parts of vegetables grown on sites contaminated by an abandoned steel plant in Havana. *Environmental Geochemistry and Health*, 1-14.
5. Ali, S., Bharwana, S.A., Rizwan, M., Farid, M., Kanwal, S., Ali, Q., Ibrahim, M., Gill, R.A., & Khan, M.D. (2015). Fulvic acid mediates chromium (Cr) tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) through lowering of Cr

1- partitioning

uptake and improved antioxidant defense system. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(14), 10601–10609. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4271-7

6. Banks, M.K., Schwab, A.P., & Henderson, C. (2006). Leaching and reduction of chromium in soil as affected by soil organic content and plants. *Chemosphere*, *62*(2), 255-264.
7. Bremner, J.M. (1996). *Total nitrogen*. p.1085-1122. In: D. L. Sparks *et al*. (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3, SSSA, ASA, Madison,WI.
8. Bouyoucos, G.J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils 1. *Agronomy Journal*, *54*(5), 464-465. https://doi.org/10.2134/agronj1962.00021962005400050028x
9. Chen, M., & Ma, L. Q. (2001). Comparison of three aqua regia digestion methods for twenty Florida soils. *Soil Science Society of America Journal*, *65*(2), 491-499. https://doi.org/10.2136/sssaj2001.652491x
10. Chen, S.Y., Huang, S.W., Chiang, P.N., Liu, J.C., Kuan, W.H., Huang, J.H., Hung, J.T., Tzou, Y.M., Chen, C.C., & Wang, M.K. (2011). Influence of chemical compositions and molecular weights of humic acids on Cr(VI) photo-reduction. *Journal of Hazardous Materials*, *197*, 337–344. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.09.091
11. Christou, A., Georgiadou, E.C., Zissimos, A.M., Christoforou, I.C., Christofi, C., Neocleous, D., Dalias, P., & Fotopoulos, V. (2021a). Uptake of hexavalent chromium by *Lactuca sativa* and *Triticum aestivum* plants and mediated effects on their performance, linked with associated public health risks. *Chemosphere*, *267*, 128912. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128912
12. Christou, A., Georgiadou, E.C., Zissimos, A.M., Christoforou, I.C., Christofi, C., Neocleous, D., Dalias, P., Ioannou, A., & Fotopoulos, V. (2021b). Uptake of hexavalent chromium by tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants and mediated effects on their physiology and productivity, along with fruit quality and safety. *Environmental and Experimental Botany*, *189*, 104564. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104564
13. Dhal, B., Thatoi, H.N., Das, N.N., & Pandey, B.D. (2013). Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: A review. *Journal of Hazardous Materials*, *250–251*, 272–291. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.01.048
14. Dias, M.C., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., Monteiro, C., Araújo, M., Brüggemann, W., & Santos, C. (2016). Physiological mechanisms to cope with Cr(VI) toxicity in lettuce: can lettuce be used in Cr phytoremediation? *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(15), 15627–15637. https://doi.org/10.1007/s11356-016-6735-9
15. Ertani, A., Mietto, A., Borin, M., & Nardi, S. (2017). Chromium in Agricultural Soils and Crops: A Review. *Water, Air, and Soil Pollution*, *228*(5). https://doi.org/10.1007/s11270-017-3356-y
16. Sauerbeck, D.R. (1991). Plant element and soil properties governing uptake and availability of heavy metals derived from sewage sludge. *Water, Air, and Soil Pollution*, *57*, 227-237.
17. Gill, R.A., Zang, L., Ali, B., Farooq, M.A., Cui, P., Yang, S., Ali, S., & Zhou, W. (2015). Chromium-induced physio-chemical and ultrastructural changes in four cultivars of *Brassica napus* L. *Chemosphere*, *120*, 154–164. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.029
18. Huang, S.W., Chiang, P.N., Liu, J.C., Hung, J.T., Kuan, W.H., Tzou, Y.M., Wang, S.L., Huang, J.H., Chen, C.C., Wang, M.K., & Loeppert, R.H. (2012). Chromate reduction on humic acid derived from a peat soil - Exploration of the activated sites on HAs for chromate removal. *Chemosphere*, *87*(6), 587–594. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.01.010
19. Hou, J., Liu, G.N., Xue, W., Fu, W.J., Liang, B.C., & Liu, X.H. (2014). Seed germination, root elongation, root-tip mitosis, and micronucleus induction of five crop plants exposed to chromium in fluvo-aquic soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *33*(3), 671-676. https://doi.org/10.1002/etc.2489
20. Jahanbakhshi, S., Rezaei, M.R., & Sayyari-Zahan, M.H. (2014). Study of phytoremediation of soil contaminated by cadmium and chromium and their bio-accumulation in spinach plant (*Spinacia oleracea*). *Journal of Natural Environment*, *66*(3). (In Persian with English abstract)
21. Janoš, P., Hůla, V., Bradnová, P., Pilařová, V., & Šedlbauer, J. (2009). Reduction and immobilization of hexavalent chromium with coal- and humate-based sorbents. *Chemosphere*, *75*(6), 732–738. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.01.037
22. Kalčíková, G., Zupančič, M., Jemec, A., & Žgajnar Gotvajn, A. (2016). The impact of humic acid on chromium phytoextraction by aquatic macrophyte *Lemna minor*. *Chemosphere*, *147*, 311–317. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.090
23. Kim, I.S., Kang, K.H., Johnson-Green, P., & Lee, E.J. (2003). Investigation of heavy metal accumulation in *Polygonum thunbergii* for phytoextraction. *Environmental Pollution*, *126*(2), 235-243.
24. Li, Y., Wang, W., Zhou, L., Liu, Y., Mirza, Z.A., & Lin, X. (2017). Remediation of hexavalent chromium spiked soil by using synthesized iron sulfide particles. *Chemosphere*, *169*, 131–138. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.060

25. Liu, X., Gu, S., Yang, S., Deng, J., & Xu, J. (2021). Heavy metals in soil-vegetable system around E-waste site and the health risk assessment. *Science of the Total Environment*, *779*, 146438. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146438
26. Loeppert, R.H., & Suarez, D.L. (1996). Carbonate and gypsum. *Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods*, *5*, 437-474
27. Ma, J., Lv, C., Xu, M., Chen, G., Lv, C., & Gao, Z. (2016). Photosynthesis performance, antioxidant enzymes, and ultrastructural analyses of rice seedlings under chromium stress. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(2), 1768–1778. https://doi.org/10.1007/s11356-015-5439-x
28. Oliveira, H. (2012). Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity. *Journal of Botany*, *2012*, 1–8. https://doi.org/10.1155/2012/375843
29. Quevauviller, P., Lachica, M., Barahona, E., Gomez, A., Rauret, G., Ure, A., & Muntau, H. (1998). Certified reference material for the quality control of EDTA-and DTPA-extractable trace metal contents in calcareous soil (CRM 600). *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, *360*, 505-511.
30. Qureshi, A.S., Hussain, M.I., Ismail, S., & Khan, Q.M. (2016). Evaluating heavy metal accumulation and potential health risks in vegetables irrigated with treated wastewater. *Chemosphere*, *163*, 54-61.
31. Park, J.H. (2020). Contrasting effects of Cr (III) and Cr (VI) on lettuce grown in hydroponics and soil: Chromium and manganese speciation. *Environmental Pollution*, *266*, 115073.
32. Raptis, S., Gasparatos, D., Economou-Eliopoulos, M., & Petridis, A. (2018). Chromium uptake by lettuce as affected by the application of organic matter and Cr(VI)-irrigation water: Implications to the land use and water management. *Chemosphere*, *210*(Vi), 597–606. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.046
33. Riaz, M., Yasmeen, T., Arif, M.S., Ashraf, M.A., Hussain, Q., Shahzad, S.M., Rizwan, M., Mehmood, M.W., Zia, A., Mian, I.A., & Fahad, S. (2019). Variations in morphological and physiological traits of wheat regulated by chromium species in long-term tannery effluent irrigated soils. *Chemosphere*, *222*, 891–903. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.170
34. Richards, L.A. (Ed.). (1954). *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils* (No. 60). US Government Printing Office.
35. Rutigliano, F.A., Marzaioli, R., De Crescenzo, S., & Trifuoggi, M. (2019). Human health risk from consumption of two common crops grown in polluted soils. *Science of the Total Environment*, *691*, 195–204. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.037
36. Saha, R., Nandi, R., & Saha, B. (2011). Sources and toxicity of hexavalent chromium. *Journal of Coordination Chemistry*, *64*(10), 1782–1806. https://doi.org/10.1080/00958972.2011.583646
37. Sauerbeck, D.R. (1991). Plant element and soil properties governing uptake and availability of heavy metals derived from sewage sludge. *Water, Air, and Soil Pollution*, *57*, 227-237.
38. Shahid, M., Shamshad, S., Rafiq, M., Khalid, S., Bibi, I., Niazi, N.K., Dumat, C., & Rashid, M.I. (2017). Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. *Chemosphere*, *178*, 513–533. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.074
39. Shaker, M.A., & Albishri, H.M. (2014). Dynamics and thermodynamics of toxic metals adsorption onto soil-extracted humic acid. *Chemosphere*, *111*, 587–595. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.088
40. Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., & Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International*, *31*(5), 739–753. https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.02.003
41. Singh, H.P., Mahajan, P., Kaur, S., Batish, D.R., & Kohli, R.K. (2013). Chromium toxicity and tolerance in plants. *Environmental Chemistry Letters*, *11*(3), 229–254. https://doi.org/10.1007/s10311-013-0407-5
42. Sinha, V., Pakshirajan, K., & Chaturvedi, R. (2018). Chromium tolerance, bioaccumulation and localization in plants: An overview. *Journal of Environmental Management*, *206*, 715–730. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.10.033
43. Tüfenkçi, Ş., Türkmen, Ö., Sönmez, F., Erdinç, Ç., & Şensoy, S. (2006). Effects of humic acid doses and aplication times on the plant growth, nutrient and heavy metal contents of lettuce grown on sewage sludge-applied soils. *Fresenius Environmental Bulletin*, *15*(4), 295–300.
44. Valdrighi, M.M., Pera, A., Agnolucci, M., Frassinetti, S., Lunardi, D., & Vallini, G. (1996). Effects of compost-derived humic acids on vegetable biomass production and microbial growth within a plant (*Cichorium intybus*)-soil system: A comparative study. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *58*(2–3), 133–144. https://doi.org/10.1016/0167-8809(96)01031-6
45. Wakeel, A., & Xu, M. (2020). Chromium morpho-phytotoxicity. *Plants*, *9*(5), 564. https://doi.org/10.3390/plants9050564
46. Walkley, A., & Black, I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, *37*(1), 29-38.

47. Wang, C., Gu, L., Ge, S., Liu, X., Zhang, X., & Chen, X. (2019). Remediation potential of immobilized bacterial consortium with biochar as carrier in pyrene-Cr (VI) co-contaminated soil. *Environmental Technology*, *40*(18), 2345-2353. https://doi.org/ 10.1080/09593330.2018.1441328
48. Wu, M., Li, G., Jiang, X., Xiao, Q., Niu, M., Wang, Z., & Wang, Y. (2017). Non-biological reduction of Cr(VI) by reacting with humic acids composted from cattle manure. *RSC Advances*, *7*(43), 26903–26911. https://doi.org/10.1039/c6ra28253a
49. Yang, Z., Zhang, X., Jiang, Z., Li, Q., Huang, P., Zheng, C., Liao, Q., & Yang, W. (2021). Reductive materials for remediation of hexavalent chromium contaminated soil – A review. *Science of the Total Environment*, *773*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145654
50. Zhang, J., Yin, H., Wang, H., Xu, L., Samuel, B., Chang, J., Liu, F., & Chen, H. (2019). Molecular structure-reactivity correlations of humic acid and humin fractions from a typical black soil for hexavalent chromium reduction. *Science of the Total Environment*, *651*, 2975–2984. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.165
51. Zhao, Y., Hu, C., Wang, X., Qing, X., Wang, P., Zhang, Y., Zhang, X., & Zhao, X. (2019). Selenium alleviated chromium stress in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. Pekinensis) by regulating root morphology and metal element uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *173*, 314–321. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.090